aurigin

Document Summary

New Search Help

Preview Claims
Preview Full Text
Preview Full Image

Email Link:

Document ID:	JP 10-045738 A2
Title:	ANTIBIOTIC SUBSTANCE EPOXYQUINOMICIN C AND D, ITS PRODUCTION AND ANTIRHEUMATIC AGENT
Assignee:	MICROBIAL CHEM RES FOUND
Inventor:	TAKEUCHI TOMIO TSUCHIDA TOSHIO NAKAMURA HIKARI IINUMA HIRONOBU SAWA TSUTOMU OSANAWA HIROSHI HAMADA MASA HIRANO SHINICHI MATSUMOTO NAOKI ISHIZUKA MASAAKI
US Class:	
Int'l Class:	C07D 303/36 A; A61K 31/335 B; C12P 17/02 B; C12P 17/02 J; C12R 01/01 J
Issue Date:	02/17/1998
Filing Date:	07/29/1996

Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a new compound having a new molecular skeleton and exhibiting antirheumatic activity.

SOLUTION: The antibiotic substances epoxyquinomicin C and D are expressed by the formula (R is H for epoxyquinomicin C and Cl for epoxyquinomicin D). The epoxyquinomicin C has the following physical and chemical properties; appearance and nature, white powder having weakly acidic nature; melting point, 168-172°C (decomposition); specific rotation, [α]D25=+128° (c=1.0, methanol); etc. The compound of the formula can be produced by culturing a microbial strain capable of producing epoxyquinomicin C and D such as Amycolatopsis sp. MK299-95F4 in a nutrient medium at

pH6. 5-7.5 under aerobic condition.

(C)1998,JPO

Copyright © 1993-2000 Aurigin Systems, Inc.
Legal Notices

(19)日本国特許庁（JP）　(12)公開特許公報（A）　(11)特許出願公開番号

特開平10－45738

(43)公開日　平成10年(1998)2月17日

(51)Int.Cl.⁶	識別記号	庁内整理番号	FI		技術表示箇所
C07D 303/36			C07D 303/36		
A61K 31/335	ABG		A61K 31/335	ABG	
C12P 17/02			C12P 17/02		
//(C12P 17/02					
C12R 1:01)					

審査請求　未請求　請求項の数3　OL　（全15頁）

(21)出願番号　特願平8－199249

(22)出願日　平成8年(1996)7月29日

(71)出願人　000173913
財団法人微生物化学研究会
東京都品川区上大崎3丁目14番23号

(72)発明者　竹内　富雄
東京都品川区東五反田5丁目1番11号　ニューフジマンション701

(72)発明者　土田　外志夫
神奈川県相模原市矢部2丁目3番24号　ハーモニー矢部201号

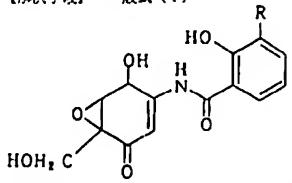
(72)発明者　中村　光
東京都台東区入谷2丁目39番地9号

(74)代理人　弁理士　八木田　茂　（外2名）

最終頁に続く

(54)【発明の名称】　抗生物質エポキシキノマイシンCおよびDとその製造法ならびに抗リウマチ剤

(57)【要約】
【課題】　抗リウマチ活性を有し且つ新しい分子骨格を有する新規な化合物を提供することを目的とする。
【解決手段】　一般式（I）

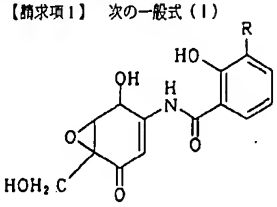


(I)

（式中、RはエポキシキノマイシンCでは水素を示し、エポキシキノマイシンDでは塩素を示す）で表わされるエポキシキノマイシンCおよびエポキシキノマイシンDが新規な抗生物質としてアミコラトプシス sp. MK299-95F4 株の培養により得られた。エポキシキノマイシンCおよびD、あるいはそれらの塩は抗リウマチ活性を有する抗生物質である。また、先に得られた新規な抗生物質であるエポキシキノマイシンAおよびエポキシキノマイシンBも抗リウマチ活性を有することが見いだされた。

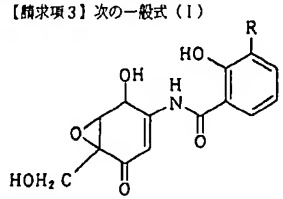
1

【特許請求の範囲】
【請求項1】　次の一般式（I）



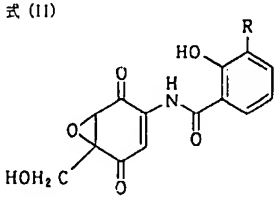
(I)

（式中、RはエポキシキノマイシンCでは水素原子を示し、またエポキシキノマイシンDでは塩素原子を示す）で表わされる化合物である抗生物質エポキシキノマイシンCおよびエポキシキノマイシンD、またはそれらの塩。
【請求項2】　アミコラトプシス属に属する、請求項1に記載のエポキシキノマイシンCおよびDの生産菌を栄養培地に培養し、その培養物からエポキシキノマイシンCおよび（または）Dを採取することを特徴とする、抗生物質エポキシキノマイシンCおよび（または）エポキシキノマイシンDの製造法。
【請求項3】次の一般式（I）



(I)

（式中、RはエポキシキノマイシンCでは水素原子を示し、またエポキシキノマイシンDでは塩素原子を示す）で表わされる化合物である抗生物質エポキシキノマイシンCおよびエポキシキノマイシンD、ならびに次の一般式（II）



(II)

（式中、RはエポキシキノマイシンAでは塩素原子を示し、またエポキシキノマイシンBでは水素原子を示す）で表わされる化合物である抗生物質エポキシキノマイシンAおよびエポキシキノマイシンB、あるいはこれらの塩から選ばれる少なくとも一つの化合物を有効成分として含有することを特徴とするリウマチ剤。
【発明の詳細な説明】

2

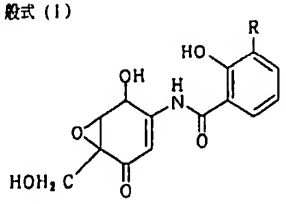
【0001】
【発明の属する技術分野】本発明は、抗リウマチ活性を示す新規化合物であるエポキシキノマイシン(Epoxyquinomicin) CおよびエポキシキノマイシンD、あるいはこれらの塩に関し、またエポキシキノマイシンCおよび（または）エポキシキノマイシンDの製造法に関する。さらに本発明は、エポキシキノマイシンCおよび（または）エポキシキノマイシンD、エポキシキノマイシンAおよびエポキシキノマイシンBまたはそれらの塩のうちの少なくとも一つの化合物を有効成分とする抗リウマチ剤に関する。
【0002】
【従来の技術】種々な多数の抗菌性物質が知られており、また種々な多数の抗腫瘍性物質が知られている。他方、従来のリウマチ治療には、ステロイド剤、酸性抗炎症剤または免疫調節剤等が使われている。
【0003】
【発明が解決しようとする課題】細菌感染症の化学療法において、従来知られまたは使用されている既知の抗菌性化合物とは、異なる化学構造を有し且つ優れた抗菌活性を示す新しい化合物の発見または創製をすることは常に望まれている。また抗腫瘍性物質は、一般に強い毒性を有するものが多く、毒性が低く且つ新規な化学構造を有する抗腫瘍性物質を発見または創製することが常に望まれており、そのための研究が行われている。
【0004】また、従来のリウマチ治療で用いられたステロイド剤および免疫調節剤には、種々の副作用があることが問題であり、また酸性抗炎症剤は対症療法である等の問題から、真に有効なリウマチ治療薬の出現が望まれている。そこで、リウマチの治療または予防に有効であり且つ副作用がないまたは弱い新規な抗リウマチ剤を提供することが要望されている。本発明の主な目的の一つは、新規な抗リウマチ剤を提供することにある。
【0005】
【課題を解決するための手段】先に、本発明者らは、抗菌活性および抗腫瘍活性を持つ新規な抗生物質を提供することを目的に、従来より有用な抗生物質の開発と実用化の研究を促進してきた。その結果、土壌試料から新規な微生物としてアミコラトプシス属に属する菌株を分離することに成功し、またこの菌株について命名されたアミコラトプシスsp. MK 299－95F4株が新しい構造骨格を有する複数の抗生物質を生産していることを見い出した。これら新規抗生物質2種を単離することに成功し、それぞれにエポキシキノマイシンAおよびエポキシキノマイシンBと命名した。更に、これらの新規抗生物質が薬剤耐性菌（メチシリン耐性菌等）をふくむグラム陽性の細菌に抗菌活性を示し、また癌細胞の増殖を抑制する抗腫瘍活性を有することを見い出した（平成7年12月4日出願の特願平 7－315542号明細書参照）。
【0006】更に、本発明者らは研究を進めたが、その

結果、アミコラトプシス属に属する前記のエポキシキノマイシンAおよびB生産菌は、エポキシキノマイシンAおよびBと化学構造骨格が共通するが別異の新規な化合物2種を生産していることを見いだした。今回、これら新規な化合物2種を単離することに成功し、それぞれにエポキシキノマイシンCおよびエポキシキノマイシンDと命名した。

【0007】また、本発明者らは、微生物の代謝産物の中から抗リウマチ活性を示す物質を検索する研究を鋭意行なっていたので、今回発見したエポキシキノマイシンCおよびエポキシキノマイシンDが抗リウマチ活性を有するか研究した。その結果、本発明にかかわるエポキシキノマイシンCおよびエポキシキノマイシンDが慢性関節リウマチの動物実験モデルであるコラーゲン誘発関節炎を抑制することを見いだした。また、先に本発明者らが発見したエポキシキノマイシンAおよびエポキシキノマイシンBも抗リウマチ活性を有することを見いだした。これらの知見に基づいて、本発明が完成された。

【0008】なお、本発明者らが今回新たに得たエポキシキノマイシンCおよびエポキシキノマイシンDは、特定の細菌に対して弱い抗菌活性を示したが、各種の癌細胞の増殖を抑制する活性がかなり低いことが認められた。

【0009】従って、第1の本発明においては、次の一般式（I）



（I）

（式中、Rはエポキシキノマイシンでは水素原子を示し、またエポキシキノマイシンDでは塩素原子を示す）で表わされる化合物であるエポキシキノマイシンCおよびエポキシキノマイシンD、あるいはこれらの塩が提供される。

【0010】エポキシキノマイシンCおよびDは、弱酸性物質であり、それらの塩としては第4級アンモニウム塩などの有機塩基との塩、あるいは各種金属との塩、例えばナトリウムのようなアルカリ金属との塩があり、これらの塩も上記の抗リウマチ活性を有する。

【0011】次に、抗生物質エポキシキノマイシンCおよびDの理化学的性状を記載する。

(1) エポキシキノマイシンCの理化学的性状

A）外観及び性質：白色粉体，弱酸性物質

B）融点： 168－ 172℃（分解）

C）比旋光度：〔α〕$_D^{25}$ ＋ 128°（c 1.0，メタノール）

D）ＴＬＣのＲｆ値：0.31

シリカゲル（Art.105715，メルク社製）の薄層クロマトグラフィーで展開溶媒としてクロロホルム－メタノール（10：1）で展開して測定した場合

E）マススペクトル（m／z）： 292（M＋H）・

290（M－H）・

F）高分解能マススペクトル：実験値 292.0821（M＋H）・

計算値 292.0804

C）分子式：$C_{14}H_{13}NO_6$

H）紫外線吸収スペクトル：

（i）メタノール溶液中で測定したＵＶ吸収スペクトルは添付図面の図1に実線で示す。主なピークは次のとおりである。

λmax nm（ε） 297(17430)

（ii）0.01N NaOH－メタノール溶液中で測定したＵＶ吸収スペクトルは添付図面の図1に点線で示す。主なピークは次のとおりである。

λmax nm（ε） 304(18270)，364(9750)

(iii) 0.01N HCl－メタノール溶液中で測定したＵＶ吸収スペクトルは添付図面の図1に破線で示す。主なピークは次のとおりである。

λmax nm（ε） 296(18140)

I）赤外線吸収スペクトル（ＫＢｒ錠剤法）：添付図面の図2に示す。

νmax(cm^{-1}) 3431，1604，1537，1460，1309，1232，1065，750

J）^{13}Ｃ－ＮＭＲスペクトル（CD_3OD／ＴＭＳ）：添付図面の図3に示す。

K）^{1}Ｈ－ＮＭＲスペクトル（CD_3OD／ＴＭＳ）：添付図面の図4に示す。

(2) エポキシキノマイシンDの理化学的性状

A）外観及び性質：黄かっ色粉体，弱酸性物質

B）融点： 163－ 168℃（分解）

C）比旋光度：〔α〕$_D^{25}$ ＋ 142°（c 1.0，メタノール）

D）ＴＬＣのＲｆ値：0.10

シリカゲル（Art.105715，メルク社製）の薄層クロマトグラフィーで展開溶媒としてクロロホルム－メタノール（10：1）で展開して測定した場合

E）マススペクトル（m／z）： 326（M＋H）・

324（M－H）・

F）高分解能マススペクトル：実験値 326.0431（M＋H）・

計算値 326.0417

G）分子式：$C_{14}H_{12}NO_6Cl$

H）紫外線吸収スペクトル：

（i）メタノール溶液中で測定したＵＶ吸収スペクトルを添付図面の図5に実線で示す。主なピークは次のとおりである。

λmax nm（ε） 299(17590)

（ii）0.01N NaOH－メタノール溶液中で測定した吸収スペクトルは添付図面の図5に点線で示す。主なピークは次のとおりである。

λmax nm（ε） 304(18950)，367(9230)

(iii) 0.01N HCl－メタノール溶液中で測定したＵＶスペクトルは添付図面の図5に破線で示す。主なピークは次のとおりである。

λmax nm（ε） 297(18530)

I）赤外線吸収スペクトル（ＫＢｒ錠剤法）：添付図面の図6に示す。

νmax(cm^{-1}) 3438，1643，1533，1281，1200

J）^{13}Ｃ－ＮＭＲスペクトル（CD_3OD／ＴＭＳ）：添付図面の図7に示す。

K）^{1}Ｈ－ＮＭＲスペクトル（CD_3OD／ＴＭＳ）：添付図面の図8に示す。さらに、抗生物質エポキシキノマイシンCおよびDの生物学的性状を次に記載する。

【0012】A）コラーゲン誘発関節炎抑制作用

コラーゲン誘発関節炎に対する効果を1群5～8のDBA/1J雄性マウスを用いて調べた。すなわち、タイプIIコラーゲンを等容量のフロイントのコンプリートアジュバントと共に乳化して1mg／mlの投与液を作製した。これをマウスの尾根部の皮内に 0.1ml接種して感作した。3週間後に同様の操作方法で乳化したタイプIIコラーゲンの 0.1mlをマウスの腹腔内に投与して追加免疫を行ない関節炎を誘発させた。

【0013】エポキシキノマイシンのAおよびCの2mg／kgまたは4mg／kg、ならびにエポキシキノマイシンBの1mg／kgまたは2mg／kgを最初のコラーゲン接種の日より1週間に3回、合計6週間腹腔内投与した。コラーゲン誘発関節炎の抑制効果は前肢および後肢の発赤、腫脹および強直の程度による0～4のスコア（4肢の合計の最高点は16）により評価した。スコア0は全く症状がみられない場合、スコア1は四肢の指など小関節が1本のみ発赤、腫脹を示す場合、スコア2は小関節が2本以上、あるいは手首、足首などの比較的大きな関節が発赤、腫脹を示す場合、スコア3は1本の手や足全体が発赤、腫脹を示す場合、さらにスコア4は1本の手や足の全体的な腫脹が最大限に達し、しかも関節の強直を伴っていると判断した場合をそれぞれ示す。結果を表1に示す。

【0014】

(表1) コラーゲン誘発関節炎抑制作用

被検化合物	投与量 (mg/kg/日)	一群中のマウス数	スコア 観察日 5週目	スコア 観察日 6週目
対照	－	8	9.25±1.35	9.00±1.44
エポキシキノマイシンA	2	6	2.00±1.03**	3.83±0.70**
	4	5	2.00±0.84**	1.20±0.58**
エポキシキノマイシンB	1	5	3.00±1.34*	3.00±1.34*
	2	5	2.25±0.85**	3.50±1.71*
エポキシキノマイシンC	2	5	6.40±0.87	6.80±0.97
	4	5	1.60±0.51**	2.40±0.93**

スコア：平均値±標準偏差
対照群との間の有意差 ＊p<0.05、＊＊p<0.01

【００１５】エポキシキノマイシンAの2mg／kg、4mg／kg、エポキシキノマイシンBの1mg／kg、2mg／kg、およびエポキシキノマイシンCの4mg／kgは有意に関節炎のスコアを抑制した。

【００１６】B）抗菌活性

本発明による抗生物質エポキシキノマイシンCおよびDの各種細菌に対する最低発育阻止濃度は、次の表2にしめす通りである。この抗菌スペクトルは日本化学療法学会標準法に基ずき、ミュラーヒントン寒天培地で倍数希釈法により測定した。

【００１７】

(表2)

試験菌	最低発育阻止濃度 (μg/ml) エポキシキノマイシンC	エポキシキノマイシンD
スタヒロコッカス・アウレウス・スミス	50	>50
スタヒロコッカス・アウレウス MS 9610	100	100
スタヒロコッカス・アウレウス MS 10526	100	100
パストレラ・ピシシダ sp.6395	50	50

【００１８】C）癌細胞増殖抑制活性

各種の癌細胞を用いて癌細胞の増殖を50%抑制するエポキシキノマイシンCおよびエポキシキノマイシンDの濃度（IC_{50}値）を、MTT法（「Journal of Immunological Methods」65巻，55－60頁(1983)参照）で測定した。その結果を表3に示す。

【００１９】

(表3)

供試癌細胞	IC_{50} (μg/ml) エポキシキノマイシンC	エポキシキノマイシンD
マウス白血病 L1210	>100	>100
マウス IMCカルシノーマ	>100	>100
エールリッヒ	>100	>100
マウス黒色腫 B16－BL6	>100	>100

【００２０】D）毒性

ICR系雄性マウスにエポキシキノマイシンCおよびエポキシキノマイシンDの100mg／kgを腹腔内単回投与したが死亡個体はなく、また毒性症状も見られなかった。また、エポキシキノマイシンCの4mg／kg／日を1週間に3回、合計6週間腹腔内に投与したが死亡個体および毒性症状を示す個体は見られなかった。エポキシキノマイシンCの温血動物に対する毒性は非常に低い。

【００２１】表2の結果から明らかなように、本発明によるエポキシキノマイシンCおよびDは、特定の細菌に対して弱い抗菌活性を有するから抗菌剤として有用である。しかし、表3の結果から明らかなように、エポキシキノマイシンCおよびDは各種の癌細胞の増殖を 100μg／mlで抑制しなかった。

【００２２】さらに第2の本発明によれば、アミコラトプシス属に属する、前記の一般式（I）のエポキシキノマイシンCおよびDの生産菌を栄養培地に培養し、その培養物からエポキシキノマイシンCおよび（または）エポキシキノマイシンDを採取することを特徴とする、抗生物質エポキシキノマイシンCおよび（または）エポキシキノマイシンDの製造法が提供される。

【００２３】第2の本発明の方法で使用できるエポキシキノマイシンCおよびDの生産菌の一例としては、アミコラトプシス sp. MK299-95F4 株がある。この菌株は平成6年10月、微生物化学研究所において、宮城県仙台市の土壌より分離された放線菌で、MK299-95F4の菌株番号が付された微生物である。

【００２４】このMK299-95F4株の菌学的性状を次に記載する。

1．形態

基生菌糸はよく分枝し、ジクザグ状を呈する。また分断が認められる。気菌糸は直状あるいは不規則な曲状で、円筒形～長円形の断片または胞子様の構造に分断する。その表面は平滑であり、大きさは約 0.4～ 0.6× 1.1～1.6ミクロンである。輪生枝、菌束糸、胞子のう及び遊動性胞子は認められない。

【００２５】2．各種培地における生育状態

色の記載について（ ）内に示す標準は、コンティナー・コーポレーション・オブ・アメリカのカラー・ハーモニー・マニュアル（Container Corporation of America のcolor harmony manual）を用いた。

(1) シュクロース・硝酸塩寒天培地（27℃培養）

無色の発育上に、白の気菌糸をうっすらと着生して、溶解性色素は認められない。

(2) グルコース・アスパラギン寒天培地（27℃培養）

うす黄〔2ea, Lt Wheat～2gc, Bamboo〕の発育上に、白の気菌糸を着生し、溶解性色素は黄を帯びる。

(3) グリセリン・アスパラギン寒天培地（ＩＳＰ－培地5、27℃培養）

うす黄茶〔3ie, Camel ～3le, Cinnamon〕の発育上に、白の気菌糸を着生して、溶解性色素は黄茶を帯びる。

(4) スターチ・無機塩寒天培地（ＩＳＰ－培地4、27℃培養）

無色の発育上に、白の気菌糸をうっすらと着生して、溶解性色素は認められない。

【００２６】(5) チロシン寒天培地（ＩＳＰ－培地7、27℃培養）

うす黄茶〔2lg, Mustard Tan〕～灰味黄茶〔3lg, Adobe Brown〕の発育上に、白の気菌糸を着生し、溶解性色素はうす黄茶を呈する。

(6) 栄養寒天培地（27℃培養）

うす黄〔2ea, Lt Wheat〕の発育上に、白の気菌糸をうっすらと着生し、溶解性色素は認められない。

(7) イースト・麦芽寒天培地（ＩＳＰ－培地2、27℃培養）

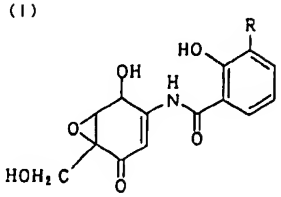
うす黄茶〔3ic, Lt Amber〕の発育上に、白の気菌糸をうっすらと着生し、溶解性色素は認められない。

(8) オートミール寒天培地（ＩＳＰ－培地３、27℃培養）
無色～うす黄〔1 1/2ca, Cream〕の発育上に、白の気菌糸をうっすらと着生し、溶解性色素は認められない。
(9) スターチ寒天培地（27℃培養）
無色の発育上に、白の気菌糸をうっすらと着生して、溶解性色素は認められない。
(10) リンゴ酸石灰寒天培地（27℃培養）
無色の発育上に、白の気菌糸をうっすらと着生して、溶解性色素は認められない。

【００２７】３．生理的性質
(1) 生育温度範囲
グルコース・アスパラギン寒天培地（グルコース 1.0%、Ｌ－アスパラギン0.05%、リン酸水素二カリウム 0.05%、ひも寒天 3.0%、 pH7.0）を用い、10℃、20℃、24℃、27℃、30℃、37℃および50℃の各温度で試験した結果、10℃、50℃での生育は認められず、20℃～37℃の範囲で生育した。生育至適温度は27℃付近と思われる。
(2) スターチの加水分解（スターチ・無機塩寒天培地、ＩＳＰ－培地４及びスターチ寒天培地、いずれも27℃培養）
21日間の培養で、いずれの培地においても陰性である。
(3) メラニン様色素の生成（トリプトン・イースト・ブロス、ＩＳＰ－培地１；ペプトン・イースト・鉄寒天培地、ＩＳＰ－培地６；チロシン寒天培地、ＩＳＰ－培地７；いずれも27℃培養）
いずれの培地においても陰性である。
【００２８】(4) 炭素源の利用性（プリドハム・ゴドリーブ寒天培地、ＩＳＰ－培地９；27℃培養）
Ｄ－グルコース、Ｄ－フルクトース、イノシトール、Ｄ－マンニトールを利用して発育し、Ｌ－アラビノース、シュクロース、ラムノース、ラフィノースは利用しない。Ｄ－キシロースの利用の有無は判然としない。
(5) リンゴ酸石灰の溶解（リンゴ酸石灰寒天培地、27℃培養）
培養後１０日目頃よりリンゴ酸石灰の溶解が認められ、その作用は中等度である。
(6) 硝酸塩の還元反応(0.1%硝酸カリウム含有ペプトン水、ＩＳＰ－培地８、27℃培養)
陰性である。
【００２９】以上の性状を要約すると、MK299-95F4株は、その形態上、基生菌糸はよく分枝し、ジグザク状を呈し、分断を認める。気菌糸は直状あるいは不規則な曲状で、円筒形～長円形の断片または胞子様の構造に分断する。輪生枝、菌束糸、胞子のう及び運動性胞子は認められない。種々の培地で、無色～うす黄～うす黄茶の発育上に白の気菌糸を着生する。一部の培地で溶解性色素は黄あるいは黄茶を帯びる。メラニン様色素の生成、スターチの水解性及び硝酸塩の還元反応はいずれも陰性である。
【００３０】ところで、MK299-95F4株の菌体成分は、細胞壁にメソ型の２，６－ジアミノピメリン酸、アラビノース及びガラクトースを含み、細胞壁タイプIV型を示した。全菌体中の還元糖はアラビノース、ガラクトースを含むＡ型であった。グリコレートテストの結果はアセチル型であった。また、ミコール酸は含有せず、リン脂質はＰII型（ホスファチジルエタノールアミンを含みホスファチジルコリン及び未知のグルコサミン含有リン脂質を含まない）、主要なメナキノンはＭＫ－９（Ｈ４）であった。脂肪酸は16：０，１－15：０，16：１，１－16：０及び17：０を主成分とした。
【００３１】以上の結果よりみて、MK299-95F4株はアミコラトプシス(Amycolatopsis)属（文献：「International Journal of Systematic Bacteriology」36巻，29－37頁，1986年）に属するものと考えられる。アミコラトプシス属の既知菌種を検索すると、アミコラトプシス・スルフレア(Amycolatopsis sulphurea)（文献１：同上；および文献２:「International Journal of Systematic Bacteriology」37 巻，292－ 295頁，1987年）が、近縁の種としてあげられた。そこで、MK299-95F4株とアミコラトプシス・スルフレアの当研究所保存菌株とを実地に比較検討中である。現時点ではMK299-95F4株をアミコラトプシス・エスピー(Amycolatopsis sp.) MK299-95F4とする。なお、MK299-95F4株を工業技術院生命工学工業技術研究所に寄託申請し、平成７年10月17日、寄託番号がFERM P-15243として受託された。
【００３２】第２の本発明の方法を実施するに当っては、アミコラトプシス属に属するエポキシキノマイシンCおよびDの生産菌を栄養培地に接種し、この培地中で培養する。ここで用いる栄養培地は、前記の生産菌が資化できる炭素源と窒素源を栄養成分として含有するものである。
【００３３】その栄養源としては、通常微生物の栄養源として通常使用されるもの、例えば炭素源、窒素源、無機塩などの同化できる栄養源を使用できる。例えば、ぶどう糖、麦芽糖、糖蜜、デキストリン、グリセリン、澱粉などの炭水化物や、大豆油、落花生油などの油脂のごとき炭素源、ならびにペプトン、肉エキス、綿実粉、大豆粉、酵母エキス、カゼイン、コーン・スチープリカー、ＮＺ－アミン、硫酸アンモニウム、硝酸アンモニウム、塩化アンモニウムなどの窒素源、さらに燐酸二カリウム、燐酸ナトリウム、食塩、炭酸カルシウム、硫酸マグネシウム、塩化マンガンなどの無機塩が使用でき、必要により微量金属例えばコバルト、鉄などを添加することができる。栄養源としては、その他、抗生物質エポキシキノマイシンCおよびDを生産するのに使用菌が利用しうるものであればいずれの公知の栄養源でも使用できる。
【００３４】培地における上記のごとき栄養源の配合割合は特に制約されるものでなく、広範囲に亘って変えることができ、使用するエポキシキノマイシンCおよびD生産菌によって、最適の栄養源の組成及び配合割合は、当事者であれば簡単な小規模実験により容易に決定することができる。また、上記の栄養源からなる栄養培地は、培養に先立ち殺菌することができ、この殺菌の前または後で、培地のｐＨを６－８の範囲、特にpH 6.5－7.5の範囲に調節するのが有利である。

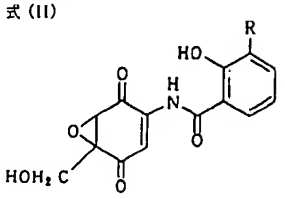
【００３５】かかる栄養培地でのエポキシキノマイシンCおよびD生産菌の培養は、一般の放線菌による抗生物質の製造において通常使用されている方法に準じて行なうことができる。通常は好気条件下に培養するのが好適であり、撹拌しながら及び／または通気しながら行なうことができる。また、培養方法としては静置培養、振とう培養、通気撹拌をともなう液内培養のいずれも使用可能であるが、液体培養がエポキシキノマイシンCおよびDの大量生産に適している。
【００３６】使用しうる培養温度はエポキシキノマイシンCおよびD生産菌の発育が実質的に阻害されず、該抗生物質を生産しうる範囲であれば、特に制限されるものではなく、使用する生産菌に応じて適宜選択できるが、特に好ましいのは25－30℃の範囲内の温度を挙げることができる。培養は通常はエポキシキノマイシンCおよびDが十分に蓄積するまで継続することができる。その培養時間は培地の組成や培養温度、使用温度、使用生産菌株などにより異なるが、通常は72－ 120時間の培養で目的の抗生物質を得ることができる。培養中の培地内のエポキシキノマイシンCおよびDの蓄積量はスタヒロコッカス・アウレウス・スミスを使用して、通常の抗生物質の定量に用いられる円筒平板法により定量することができる。
【００３７】かくして培養物中に蓄積されたエポキシキノマイシンCおよびDは、これを培養物から採取する。培養後、必要により、濾過、遠心分離などのそれ自体公知の分離方法によって培養物から菌体を除去した後に、その培養濾液を酸性(pH 2-4）に調整し有機溶媒、特に酢酸エチルなどを用いた溶媒抽出や、吸着やイオン交換能を利用したクロマトグラフィー、ゲルろ過、向流分配を利用したクロマトグラフィーを単独でまたは、組み合わせて使用することにより単離精製して目的の抗生物質を採取することができる。吸着やイオン交換能を有するクロマトグラフィー用担体としては、活性炭、シリカゲル、多孔性ポリスチレンージビニルベンゼン樹脂もしくは各種のイオン交換樹脂を用いることができる。また、分離した菌体からは、適当な有機溶媒を用いた溶媒抽出法や菌体破砕による溶出法により菌体から目的の抗生物質を抽出し、上記と同様に単離精製することができる。かくして、前記した特性を有する新規化合物エポキシキノマイシンCおよびDが得られる。
【００３８】さらに、第３の本発明では、前記の一般式

（Ｉ）



（Ｉ）

（式中、RはエポキシキノマイシンCでは水素原子を示し、またエポキシキノマイシンDでは塩素原子を示す）で表わされる化合物である抗生物質エポキシキノマイシンCおよびエポキシキノマイシンD、ならびに次の一般式（II）



（II）

（式中、RはエポキシキノマイシンAでは塩素原子を示し、またエポキシキノマイシンBでは水素原子を示す）で表わされる化合物である抗生物質エポキシキノマイシンAおよびエポキシキノマイシンB、あるいはこれらの塩から選ばれる少なくとも一つの化合物を有効成分として含有することを特徴とする抗リウマチ剤が提供される。
【００３９】第３の本発明による抗リウマチ剤においては、有効成分としてのエポキシキノマイシン類あるいはその製薬学的に許容できる塩は製薬学的に許容できる常用の固体または液体担体、例えばエタノール、水、でん粉等と混和されている形の組成物であることができる。
【００４０】第３の本発明による抗リウマチ剤で有効成分として用いられるエポキシキノマイシンAおよびエポキシキノマイシンBは新規な物質であってこれらの物理化学的性質の詳細は特願平 7－315542号明細書に記載されており、またこの明細書には、前記のアミコラトプシス sp. MK 299－95F4株の培養によるそれらの製造法も記載されてある。
【００４１】エポキシキノマイシンAおよびBの物理化学的性質の主なところを次に記載する。
（１）エポキシキノマイシンAの理化学的性状
A）外観および性質：淡黄色粉体，弱酸性物質
B）融点：168－ 173℃（分解）
C）比旋光度：〔α〕$_D^{25}$ ＋44.6°（c 0.51，メタノール）
D）ＴＬＣのＲｆ値：0.28
シリカゲル（Art.105715，メルク社製）の薄層クロマト

グラフィーで展開溶媒としてクロロホルム－メタノール（10:1）で展開して測定した場合。

【００４２】Ｅ）分子式：$C_{14}H_{10}NO_6Cl$

Ｆ）紫外線吸収スペクトル：メタノール溶液中で測定したＵＶ吸収スペクトルの主なピークは次のとおりである。

λmax nm（ε）236(sh, 8900), 255(sh, 5900), 325(8000),370(sh, 2700)

Ｇ）赤外線吸収スペクトル（ＫＢｒ錠剤法）

νmax(cm^{-1}) 3450, 1710, 1670, 1600, 1520, 1460, 1340, 1230

【００４３】(2) エポキシシキノマイシンＢの理化学的性状

Ａ）外観及び性質：淡黄色粉体，弱酸性物質

Ｂ）融点：178－184℃（分解）

Ｃ）比旋光度：〔α〕$_D^{25}$ +32.2°（c 0.51, メタノール）

Ｄ）ＴＬＣのＲｆ値：0.52

シリカゲル（Art.105715, メルク社製）の薄層クロマトグラフィーで展開溶媒としてクロロホルム－メタノール（10：1）で展開して測定した場合。

【００４４】Ｅ）分子式：$C_{14}H_{11}NO_6$

Ｆ）紫外線吸収スペクトル：メタノール溶液中で測定したＵＶ吸収スペクトルの主なピークは次のとおりである。

λmax nm（ε）237(6100), 253(sh, 5400), 326(6300)

Ｇ）赤外線吸収スペクトル（ＫＢｒ錠剤法）

νmax(cm^{-1}) 3430, 1710, 1660, 1610, 1530, 1340, 1230

【００４５】第３の本発明による抗リウマチ剤で有効成分として用いられるエポキシシキノマイシンＣおよびＤならびにエポキシシキノマイシンＡおよびＢは、前記のとおり、慢性関節炎リウマチの動物実験モデルであるコラーゲン誘発関節炎を抑制する活性を有する。エポキシシキノマイシンＣおよびＤならびにエポキシシキノマイシンＡおよびＢは特に抗リウマチ剤として使用される場合に、それらの投与量は症状により異なるが一般に成人一日量10～2000mg、好ましくは20～600mgであり、症状に応じて必要により１～３回に分けて投与するのがよい。投与方法は投与に適した形態をとることができ、特に経口的投与あるいは静脈的投与が望ましい。

【００４６】エポキシシキノマイシンＡ～Ｄは、前記に示すとおり、コラーゲン誘発関節炎に対する抑制作用を有するから、慢性関節リウマチのみならず、自己免疫軽減または抑制剤として、全身性エリテマトーデス、全身性硬化症、結節性動脈周囲炎、潰瘍性大腸炎および若年性糖尿病などの自己免疫疾患の予防または治療にも有効に適用することが期待できる。

【００４７】

【発明の実施の形態】次に実施例により本発明を更に詳細に説明するが、本発明は下記の実施例に限定されるものでない。

【００４８】実施例１　抗生物質エポキシシキノマイシンＣおよびＤならびにエポキシシキノマイシンＡおよびＢの製造

（Ａ）グリセリン 0.5%、シュークロース　２%、大豆粉　１%、乾燥酵母１%、コーン・スチープ・リカー 0.5%、塩化コバルト 0.001%を含む液体培地(pH7.0に調整) を三角フラスコ(500ml容) に 110mlずつ分注し、常法により 120℃で20分滅菌した。これらの培地に、寒天斜面培地に培養したアミコラトプシスsp. MK299-95F4 株（FERM P-15243）を接種し、その後30℃で５日間回転振とう培養した。これにより種母培養液を得た。

【００４９】グリセリン　２%、デキストリン　２%、バクトーソイトン　１%、粉末酵母エキス 0.3%、硫酸アンモニウム 0.2%、炭酸カルシウム 0.2%、シリコーンオイル１滴を含む液体培地(pH7.4に調整) を三角フラスコ(500ml容) に 110mlずつ分注し、常法により 120℃で20分滅菌した。その後、これら培地に、上記種母培養液をそれぞれ２mlずつ接種し、27℃で４日間回転振とう培養した。

【００５０】このようにして得られた培養液を遠心分離して菌体を除去した。培養ろ液 1.8リットル（Ｌ）は、６Ｎ－HCl によりpH２にした後に酢酸ブチル 1.8Ｌで抽出して、酢酸ブチル層を無水硫酸ナトリウムにより乾燥した。酢酸ブチル層を減圧下で濃縮乾固し、残渣をメタノール50mlに溶かしヘキサン50mlで２回洗浄した。メタノール層を減圧下で濃縮乾固すると茶色の油状物（ 980 mg）が得られた。この油状物をシリカゲルカラム(Merck,Kieselgel 60, 120ml) に付し、トルエン－アセトン系（10：１，５：１，３：１）で順次溶出するとエポキシシキノマイシンＡが18mg、エポキシシキノマイシンＢが19 mg、エポキシシキノマイシンＣおよびＤの混合物が 170mg得られた。この混合物の51mgをシリカゲルＴＬＣ（Merck,Art.105715, クロロホルム－10%含水メタノール＝10：１で３回展開）で分離精製すると白色固体のエポキシシキノマイシンＣが13mg得られ、また黄かっ色粉末のエポキシシキノマイシンＤが23mg得られた。すなわちエポキシシキノマイシンＣが融点 168～172℃（分解）の白色粉末として13mgの収量で得られ、またエポキシシキノマイシンＤが融点 163～ 168℃（分解）の黄かっ色粉末として23mgの収量で得られた。

（Ｂ）なお、前記の（Ａ）項と同様にして得られた培養液を濾過して菌体を分離した。培養ろ液2.55リットル（Ｌ）を、６Ｎ－HCl によりpH２にした後に酢酸ブチル 2.55Ｌで抽出し、酢酸ブチル層を無水硫酸ナトリウムにより乾燥した。酢酸ブチル層を減圧下で濃縮乾固し、残渣をメタノール50mlに溶かしヘキサン50mlで２回洗浄し、メタノール層を減圧下で濃縮乾固した。得られた残渣をクロロホルム－メタノール－水(50 ：10：40,100m

l) で分配し、下層を減圧下で濃縮乾固すると、茶色の油状物(0.515ｇ) が得られた。この油状物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（Kieselgel 60, メルク社製, 50ml）に付し、トルエン－アセトン混合溶媒（10：１，７：１，５：１，３：１，２：１）で順次溶出した。得られた活性画分を同条件のシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、トルエン－アセトン混合溶媒（50：１，20：１，10：１，７：１）で順次溶出した。エポキシシキノマイシンＡおよびＢの混合物が 124mg得られた。この混合物の35mgをシリカゲルＴＬＣ（展開溶媒：クロロホルム－メタノール，20：１）にかけて分離精製した。エポキシシキノマイシンＡが融点 168～ 173℃（分解）の淡黄色粉末として20mgの収量で得られ、またエポキシシキノマイシンＢが融点 178～ 184℃（分解）の淡黄色粉末として10mgの収量で得られた。

【図面の簡単な説明】

【図１】エポキシシキノマイシンＣのメタノール溶液中、0.01Ｎ NaOH－メタノール溶液中および0.01Ｎ HCl－メタノール溶液中のそれぞれの紫外線吸収スペクトルである。

【図２】エポキシシキノマイシンＣのＫＢｒ錠剤法で測定した赤外線吸収スペクトルである。

【図３】エポキシシキノマイシンＣの重メタノール溶液（内部標準：トリメチルシラン）にて測定したプロトン核磁気共鳴スペクトルである。

【図４】エポキシシキノマイシンＣの重メタノール溶液（内部標準：トリメチルシラン）にて測定した炭素13核磁気共鳴スペクトルである。

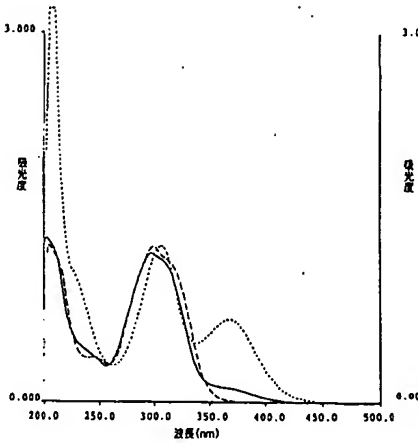
【図５】エポキシシキノマイシンＤのメタノール溶液中、0.01Ｎ NaOH－メタノール溶液中および0.01Ｎ HCl－メタノール溶液中のそれぞれの紫外線吸収スペクトルである。

【図６】エポキシシキノマイシンＤのＫＢｒ錠剤法で測定した赤外線吸収スペクトルである。

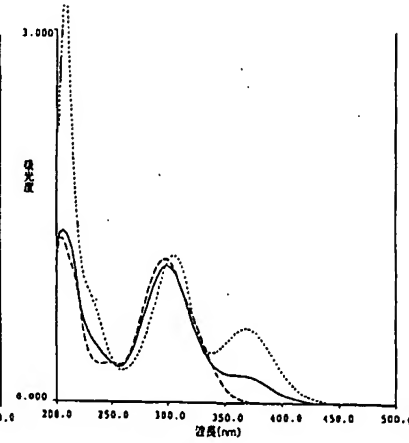
【図７】エポキシシキノマイシンＤの重メタノール溶液（内部標準：トリメチルシラン）にて測定したプロトン核磁気共鳴スペクトルである。

【図８】エポキシシキノマイシンＤの重メタノール溶液（内部標準：トリメチルシラン）にて測定した炭素13核磁気共鳴スペクトルである。

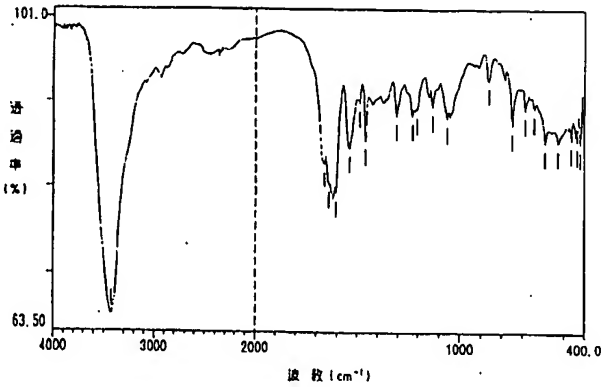
【図１】



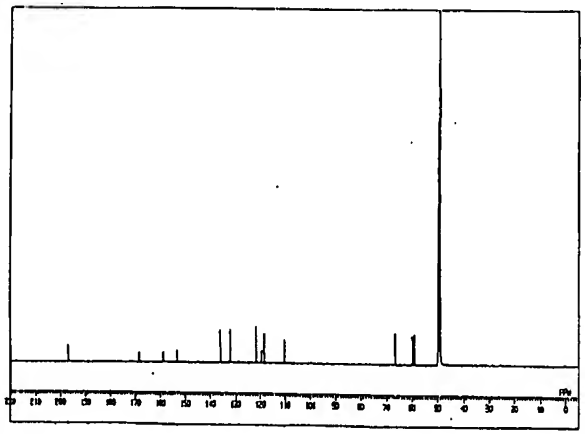
【図５】



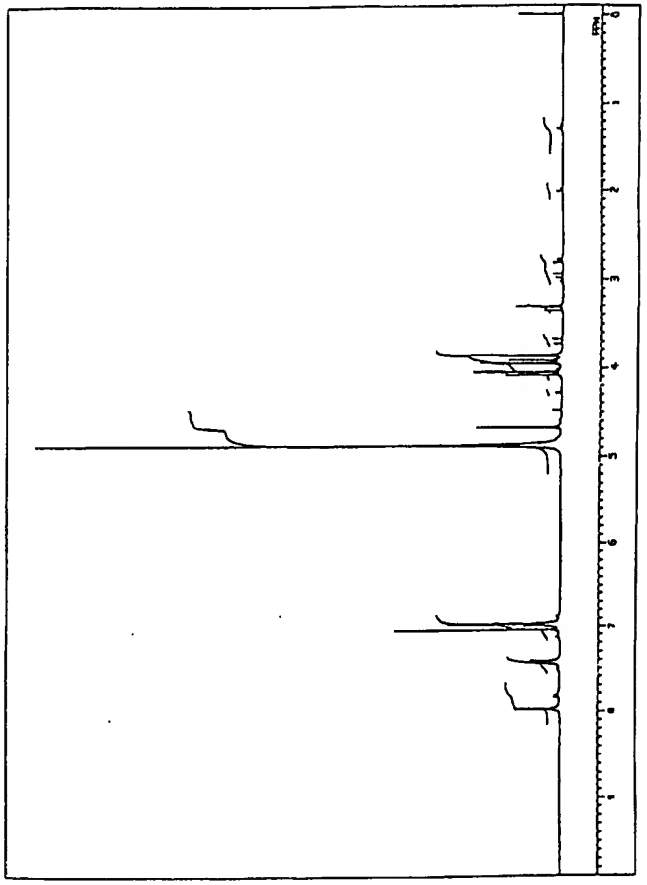
【図２】



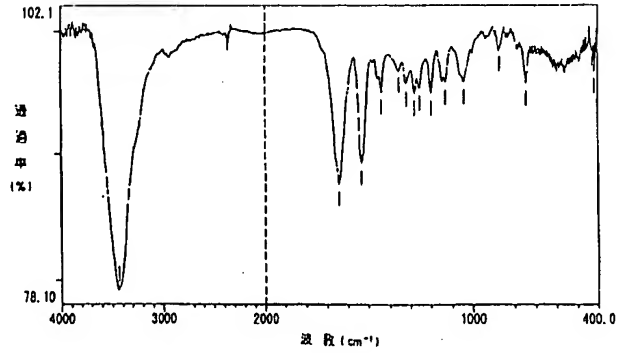
【図３】



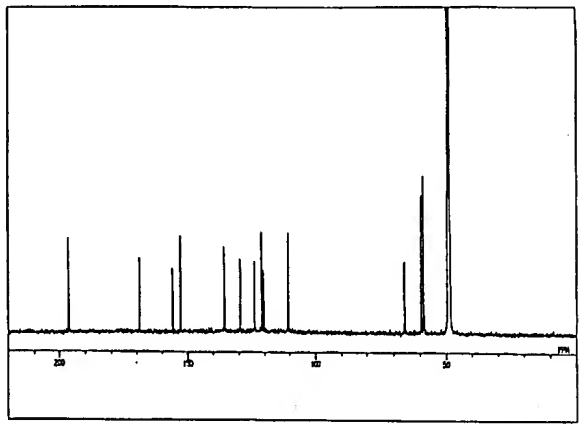
【図４】



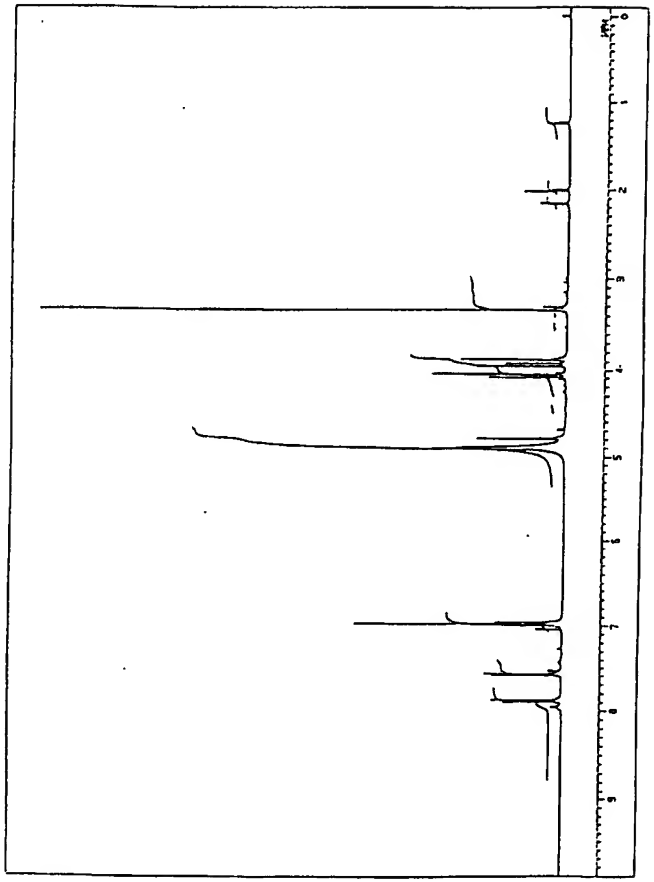
【図６】



【図７】



【図８】



フロントページの続き

(72)発明者 飯沼 寛倡
神奈川県横浜市緑区白山４丁目61番17号
(72)発明者 澤 力
神奈川県綾瀬市綾西四丁目６番７号
(72)発明者 長縄 博
東京都大田区田園調布本町３番17号
(72)発明者 濱田 雅
東京都新宿区内藤町１番地26 秀和レジデンス405号
(72)発明者 平野 伸一
神奈川県茅ケ崎市本村５丁目８番１－207
(72)発明者 松本 直樹
神奈川県横浜市旭区さちが丘11番地３ 第１グリーンコーポ102

(72)発明者 石塚 雅章
静岡県三島市西若町6番5号 パストラル
ハイム壱番館411

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 10-045738
(43)Date of publication of application : 17.02.1998

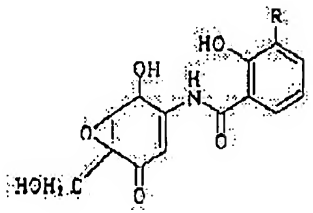
(51)Int.Cl. C07D303/36
A61K 31/335
C12P 17/02
//(C12P 17/02
C12R 1:01)

(21)Application number : 08-199249
(22)Date of filing : 29.07.1996

(71)Applicant : MICROBIAL CHEM RES FOUND
(72)Inventor : TAKEUCHI TOMIO
TSUCHIDA TOSHIO
NAKAMURA HIKARI
IINUMA HIRONOBU
SAWA TSUTOMU
OSANAWA HIROSHI
HAMADA MASA
HIRANO SHINICHI
MATSUMOTO NAOKI
ISHIZUKA MASAAKI

(54) ANTIBIOTIC SUBSTANCE EPOXYQUINOMICIN C AND D, ITS PRODUCTION AND ANTIRHEUMATIC AGENT

(57)Abstract:
PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a new compound having a new molecular skeleton and exhibiting antirheumatic activity.
SOLUTION: The antibiotic substances epoxyquinomicin C and D are expressed by the formula (R is H for epoxyquinomicin C and Cl for epoxyquinomicin D). The epoxyquinomicin C has the following physical and chemical properties; appearance and nature, white powder having weakly acidic nature; melting point, 168-172° C (decomposition); specific rotation, [α] D25=+128° (c=1.0, methanol); etc. The compound of the formula can be produced by culturing a microbial strain capable of producing epoxyquinomicin C and D such as Amycolatopsis sp. MK299-95F4 in a nutrient medium at pH6.5-7.5 under aerobic condition.



LEGAL STATUS
[Date of request for examination]
[Date of sending the examiner's decision of rejection]
[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]
[Date of final disposal for application]
[Patent number]
[Date of registration]
[Number of appeal against examiner's decision of rejection]
[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]
[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

http://www19.ipdl.ncipi.go.jp/PA1/result/detail/main/wAAAzlaW4HDA410045738P1.... 17/07/11

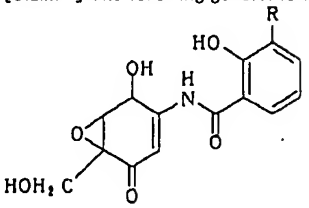
* NOTICES *

JPO and NCIPI are not responsible for any
damages caused by the use of this translation.

1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2.**** shows the word which can not be translated.
3.In the drawings, any words are not translated.

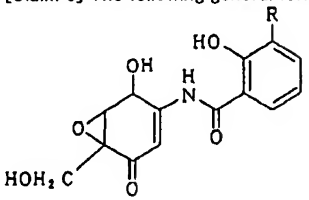
CLAIMS

[Claim(s)]
[Claim 1] The following general formula (I)



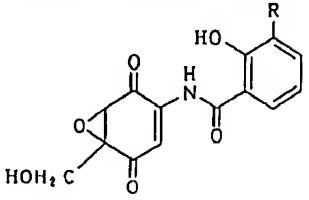
(I)

They are the antibiotic epoxy kino mycin C which is expressed with (R showing a hydrogen atom by epoxy kino mycin C, and showing a chlorine atom by epoxy kino mycin D among a formula) and which is a compound and epoxy kino mycin D, or those salts.
[Claim 2] the manufacturing method of the antibiotic epoxy kino mycin C which cultivates the production bacillus of the epoxy kino mycin C and D according to claim 1 belonging to the Amycolatopsis group to a nutrition culture medium, and is characterized by extracting epoxy kino mycin C and (or) D from the culture, and (or) epoxy kino mycin D.
[Claim 3] The following general formula (I)



(I)

They are the antibiotic epoxy kino mycin C which is expressed with (R showing a hydrogen atom by epoxy kino mycin C, and showing a chlorine atom by epoxy kino mycin D among a formula) and which is a compound, epoxy kino mycin D, and the following general formula (II).



(II)

It is the rheumatism agent characterized by containing at least one compound chosen from the antibiotic epoxy quinomycin A which is expressed with (R showing a chlorine atom by epoxy

quinomycin A, and showing a hydrogen atom by epoxy kino mycin B among a formula), and which is a compound and epoxy kino mycin B, or these salts as an active principle.

[Translation done.]

* NOTICES *

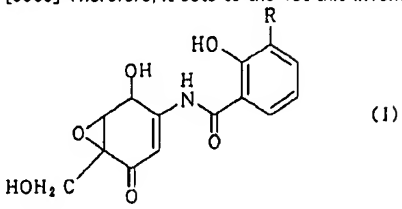
JPO and NCIPI are not responsible for any
damages caused by the use of this translation.

1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2.**** shows the word which can not be translated.
3.In the drawings, any words are not translated.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]
[0001]
[Field of the Invention] this invention relates to the manufacturing method of epoxy kino mycin C and (or) epoxy kino mycin D, concerning the epoxy kino mycin (Epoxyquinomicin) C which is the new molecular entity in which anti-rheumatism activity is shown and epoxy kino mycin D, or these salts. furthermore, this invention relates to the antirheumatic which makes an active principle epoxy kino mycin C and (or) epoxy kino mycin D, epoxy quinomycin A and epoxy kino mycin B, or at least one compound in those salts.
[0002]
[Description of the Prior Art] The antibacterial substance of various large number is known, and the anticancer matter of various large number is known. On the other hand, the steroid, the acid anti-inflammatory agent, or the immunity modifier is used for the conventional rheumatism therapy.
[0003]
[Problem(s) to be Solved by the Invention] In the chemotherapy of the microbism, to carry out the discovery or the invention of a new compound whose known antibacterial compound which is known conventionally or is used shows the antimicrobial activity which has the different chemical structure and was excellent is always desired. Moreover, the anticancer matter is always wanted to discover or invent the anticancer matter with which there is much what generally has strong toxicity, and toxicity has the low and new chemical structure, and research for it is done.
[0004] moreover, it is a problem that there are various side effects in the steroid and immunity modifier which were used under the conventional rheumatism therapy, and an acid anti-inflammatory agent is symptomatic therapy -- etc. -- an appearance of a very effective antirheumatic is desired from the problem. Then, or it is effective in the therapy or prevention of rheumatism and there is no side effect, it is requested that a weak new antirheumatic is offered. One of the main purposes of this invention is to offer a new antirheumatic.
[0005]
[Means for Solving the Problem] Previously, this invention persons have promoted development of an antibiotic more useful than before and research of utilization for the purpose of offering a new antibiotic with antimicrobial activity and antitumor activity. Consequently, the Amycolatopsis sp.MK 299-95F4 share which succeeded in separating the strain which belongs to the Amycolatopsis group as a new microorganism from a soil sample, and was named about this strain found out producing two or more antibiotics which have a new soil skeleton. It succeeded in isolating two sorts of these new antibiotics, and each was named epoxy quinomycin A and epoxy kino mycin B. Furthermore, it found out having the antitumor activity which shows antimicrobial activity to the gram-positive bacteria with which these new antibiotics contain drug resistance bacteria (methicillin resistant bacteria etc.), and controls growth of a cancer cell (refer to the Japanese-Patent-Application-No. 7 No. -315542 specification of the December, Heisei 7 four-day application).
[0006] Furthermore, it found out that the aforementioned epoxy quinomycin A and aforementioned B production bacillus which belong to the Amycolatopsis group although this

invention persons advanced research consequently produced two sorts of new compounds of another ** although a chemical structure frame is common in epoxy quinomycin A and B. It succeeded in isolating two sorts of these new compounds this time, and each was named epoxy kino mycin C and epoxy kino mycin D.
[0007] Moreover, since this invention persons were doing wholeheartedly research which searches the matter in which anti-rheumatism activity is shown out of the metabolite of a microorganism, they studied whether the epoxy kino mycin C discovered this time and epoxy kino mycin D would have anti-rheumatism activity. Consequently, the epoxy kino mycin C in connection with this invention and epoxy kino mycin D found out controlling the collagen induction arthritis which is the animal experiment model of rheumatoid arthritis. Moreover, it found out that the epoxy quinomycin A and the epoxy kino mycin B which this invention persons discovered previously had anti-rheumatism activity. This invention was completed based on these knowledge.
[0008] In addition, although the epoxy kino mycin C which this invention persons newly got this time, and epoxy kino mycin D showed weak antimicrobial activity to specific bacteria, it was admitted that the activity which controls growth of various kinds of cancer cells was quite low.
[0009] Therefore, it sets to the 1st this invention and is the following general formula. (I)



(I)

The epoxy kino mycin C which is expressed with (R showing a hydrogen atom by epoxy kino mycin C, and showing a chlorine atom by epoxy kino mycin D among a formula) and which is a compound and epoxy kino mycin D, or these salts are offered.
[0010] Epoxy kino mycin C and D is the weak acidic matter, and has a salt with organic bases, such as quarternary ammonium salt, or a salt with various metals, for example, a salt with alkali metal like sodium, as those salts, and these salts also have the above-mentioned anti-rheumatism activity.
[0011] next, antibiotic epoxy kino mycin C and D is physicochemical -- description is indicated.
(1) epoxy kino mycin C is physicochemical -- description -- A appearance and property: -- white fine particles and weak acidic matter B melting point: 168 to 172 degree C (decomposition)

C) specific-rotation: -- Rf value: of [alpha] D 25+128"(c 1.0, methanol) DTLC -- as an expansion solvent with the thin-layer chromatography of 0.31 silica gel (Art.105715, Merck Co. make) When it developed and measures with a chloroform-methanol (10:1) E mass spectrum (m/z) : 292(M+H) + 290(M-H)- F high-resolution mass spectrum: Experimental value 292.0821(M+H)+ Calculated value 292.0804G molecular formula: -- C14H13NO6H ultraviolet absorption spectrum: -- a continuous line shows UV absorption spectrum measured in (i) methanol solution to drawing 1 of an accompanying drawing. The main peaks are as follows.
lambdamax nm (epsilon) (ii)297 (17430) 0.01Ns A dotted line shows UV absorption spectrum measured in the NaOH-methanol solution to drawing 1 of an accompanying drawing. The main peaks are as follows.
lambdamax nm (epsilon) A broken line shows UV absorption spectrum measured in 304 (18270) and a 364 (9750) (iii) 0.01N HCl-methanol solution to drawing 1 of an accompanying drawing. The main peaks are as follows.
lambdamax nm (epsilon) 296(18140) I infrared absorption spectrum (KBr briquette method): It is shown in drawing 2 of an accompanying drawing.
numax (cm-1) 3431, 1604, 1537, 1460, 1309, 1232, 1065, a 750J 13 C-NMR spectrum (CD3 OD/TMS): It is shown in drawing 3 of an accompanying drawing.

K) 1 H-NMR spectrum (CD3 OD/TMS) : it is shown in drawing 4 of an accompanying drawing.
(2) epoxy kino mycin D is physicochemical -- description -- A appearance and property: -- yellowish brown fine particles and weak acidic matter B melting point: 163 to 168 degree C (decomposition)
C) specific-rotation: -- Rf value: of [alpha] D 25+142"(c 1.0, methanol) DTLC -- as an expansion solvent with the thin-layer chromatography of 0.10 silica gel (Art.105715, Merck Co. make) When it developed and measures with a chloroform-methanol (10:1) E mass spectrum (m/z) : 326(M+H) + 324(M-H)- F high-resolution mass spectrum: Experimental value 326.0431(M+H)+ Calculated value 326.0417G molecular formula: -- C14H12NO6 ClH ultraviolet absorption spectrum: -- a continuous line shows UV absorption spectrum measured in (i) methanol solution to drawing 5 of an accompanying drawing. The main peaks are as follows.
lambdamax nm (epsilon) (ii)299 (17590) 0.01Ns A dotted line shows the absorption spectrum measured in the NaOH-methanol solution to drawing 5 of an accompanying drawing. The main peaks are as follows.
A broken line shows UV spectrum measured in lambdamax nm (epsilon)304 (18950) and a 367 (9230) (iii) 0.01N HCl-methanol solution to drawing 5 of an accompanying drawing. The main peaks are as follows.
lambdamax nm(epsilon)297(18530) I infrared absorption spectrum (KBr briquette method): It is shown in drawing 6 of an accompanying drawing.
numax (cm-1) 3438, 1643, 1533, 1281, a 1200J 13 C-NMR spectrum (CD3 OD/TMS): It is shown in drawing 7 of an accompanying drawing.
K) 1 H-NMR spectrum (CD3 OD/TMS) : it is shown in drawing 8 of an accompanying drawing.
furthermore, antibiotic epoxy kino mycin C and D is biological -- description is indicated below.
[0012] A) The effectiveness over collagen induction arthritis depressant action collagen induction arthritis was investigated using DBA / 1J male mouse of one groups 5-8. That is, the type II collagen was emulsified with the complete adjuvant of Freund of the amount of isochore, and 1mg [/ml] administration liquid was produced. It is in the hide of the ridge section of a mouse about this. 0.1ml was inoculated and sensitization was carried out. Type II collagen emulsified on the operating instructions same after three weeks Intraperitoneal [of a mouse] was medicated with 0.1ml, the booster was performed, and arthritis was made to induce.
[0013] 2 mg/kg of A and C of epoxy kino mycin or 4 mg/kg and 1 mg/kg of epoxy kino mycin B, or 2 mg/kg were injected intraperitoneally a total of six weeks 3 times from the day of the first collagen inoculation at one week. The depressor effect of collagen induction arthritis was evaluated with the score (the apex of the sum total of four legs is 16) of 0-4 by extent of the rubor of a forelimb and a hind foot, swelling, and a tetany. When a symptom is not seen at all, as for a score 0, facets, such as a finger of the limbs, one score 1 The rubor, When swelling is shown, comparatively big joints, such as 2 or more or a wrist, and an ankle, a score 2 The rubor, [a facet] When swelling is shown, the case where a score 3 judges that the score 4 reached the maximum further and the overall swelling of one hand or guide peg is moreover accompanied by the tetany of a joint when one hand and the whole guide peg show the rubor and swelling is shown, respectively. A result is shown in Table 1.
[0014]

(表1) コラーゲン誘発関節炎抑制作用

被検化合物	投与量 (mg/kg/日)	一群中のマウス数	スコア 観察日 5週目	スコア 観察日 6週目
対照	-	8	9.25±1.35	9.00±1.44
エポキシキノマイシンA	2	8	2.00±1.03**	3.83±0.70**
	4	5	2.00±0.84**	1.20±0.58**
エポキシキノマイシンB	1	5	3.00±1.34*	3.00±1.84*
	2	5	2.25±0.85**	3.50±1.71*
エポキシキノマイシンC	2	5	6.40±0.87	6.80±0.97
	4	5	1.60±0.51**	2.40±0.93**

スコア：平均値±標準誤差
対照群との間の有意差 *p<0.05、**p<0.01

[0015] 2 mg/kg of epoxy quinomycin A, 4 mg/kg, 1 mg/kg of epoxy kino mycin B, 2 mg/kg, and 4 mg/kg of epoxy kino mycin C controlled the score of arthritis intentionally.
[0016] B) The minimum growth inhibition concentration to the various bacteria of the antibiotic epoxy kino mycin C and D by antimicrobial activity this invention is as being shown in the next table 2. This antimicrobial spectrum was measured with the multiple dilution method by ****** and the Mueller HINTON agar medium by the Japanese Society of Chemotherapy standard method.
[0017]
(表2)

試験菌	最低発育阻止濃度 (μg/ml) エポキシキノマイシンC	エポキシキノマイシンD
スタヒロコッカス・アウレウス・スミス	50	>50
スタヒロコッカス・アウレウス IS 9610	100	100
スタヒロコッカス・アウレウス IS 16526	100	100
パストレラ・ピシシダ sp.6395	50	50

[0018] C) The concentration (IC50 value) of the epoxy kino mycin C which controls growth of a

cancer cell 50% using the cancer cell of cancer cell growth control activity various kinds, and epoxy kino mycin D was measured by the MTT method ("Journal oflmmunological Methods" refer to 65 volumes, and 55 -60 pages (1983)). The result is shown in Table 3.

[0019]

[表3]

供試癌細胞	IC$_{50}$ (μg/ml)	
	エポキシキノマイシンC	エポキシキノマイシンD
マウス白血病 L1210	>100	>100
マウス IMCカルシノーマ	>100	>100
エールリッヒ	>100	>100
マウス黒色腫 B16-BL6	>100	>100

[0020] D) Although intraperitoneal single-dose administration of 100 mg/kg of epoxy kino mycin C and epoxy kino mycin D was carried out to the toxic ICR system male mouse, there is no death individual and a toxic symptom was not seen, either. Moreover, although it medicated intraperitoneal one with 4 mg/kg / day of epoxy kino mycin C 3 times and a total of six weeks at one week, the individual which shows a death individual and a toxic symptom was not seen. The toxicity over the homeotherm of epoxy kino mycin C is very low.

[0021] Since the epoxy kino mycin C and D by this invention has weak antimicrobial activity to specific bacteria, it is useful as an antimicrobial agent, so that clearly from the result of Table 2. However, epoxy kino mycin C and D is growth of various kinds of cancer cells so that clearly from the result of Table 3. It did not control by ml in 100microg /.

[0022] furthermore, according to the 2nd this invention, the production bacillus of the epoxy kino mycin C and D of the aforementioned general formula (I) belonging to the Amycolatopsis group is cultivated to a nutrition culture medium, and the manufacturing method of the antibiotic epoxy kino mycin C characterized by extracting epoxy kino mycin C and (or) epoxy kino mycin D from the culture and (or) epoxy kino mycin D is offered.

[0023] As an example of the production bacillus of the epoxy kino mycin C and D which can be used by the approach of the 2nd this invention, it is Amycolatopsis. sp.MK299-95F4 There is a stock. In a microorganism national chemical laborator, this strain is the Actinomyces separated from the soil of Sendai, Miyagi, and will be the microorganism to which the strain number of MK299-95F4 was given in October, Heisei 6.

[0024] This MK299-95F4 share mycology-description is indicated below.

1. Branch gestalt radical viable cell yarn well, and it presents the letter of zigzag. Moreover, fragmentation is accepted. Aerial mycelia have the shape of direct, and the shape of irregular music, and are divided in the fragment of a cylindrical shape - an ellipse, or the spore's structure. The front face is smooth and magnitude is abbreviation. It is 0.4 to 0.6x1.1-1.6 microns. a whorl branch, ******, and a spore obtain and a movement sexual spore is not accepted.

[0025] 2. The color harmony manual (color harmony manual of Container Corporation ofAmerica) of the container corporation OBU United States was used for the criterion shown in [ ] about the publication of the growth condition color in various culture media.

(1) Sucrose and a nitrate agar medium (27-degree-C culture)
On colorless growth, white aerial mycelium is grown slightly, and soluble coloring matter is not accepted.

(2) Glucose asparagine agar medium (27-degree-C culture)

Growing white aerial mycelium on growth of light yellow [2ea, Lt Wheat-2gc, Bamboo], soluble coloring matter wears yellow.

(3) Glycerol asparagine agar medium (5 or 27 degrees-C culture of ISP-culture media)
Growing white aerial mycelium on growth of light yellow tea [3ie, Camel -3le, Cinnamon], soluble coloring matter wears yellow-brown.

(4) Starch and a mineral salt agar medium (4 or 27 degrees-C culture of ISP-culture media)
On colorless growth, white aerial mycelium is grown slightly, and soluble coloring matter is not accepted.

[0026] (5) Thyrosin agar medium (7 or 27 degrees-C culture of ISP-culture media)
Growing white aerial mycelium on growth of light yellow tea [2lg, Mustard Tan] - gray tint yellow-brown [3lg, Adobe Brown], soluble coloring matter presents light yellow tea.

(6) Nutrient agar medium (27-degree-C culture)
White aerial mycelium is slightly grown on growth of light yellow [2ea, Lt Wheat], and soluble coloring matter is not accepted.

(7) Yeast and a malt-agar culture medium (2 or 27 degrees-C culture of ISP-culture media)
White aerial mycelium is slightly grown on growth of light yellow tea [3ic, Lt Amber], and soluble coloring matter is not accepted.

(8) Oatmeal agar medium (3 or 27 degrees-C culture of ISP-culture media)
White aerial mycelium is slightly grown on growth of colorlessness - light yellow [1 1/2ca, Cream], and soluble coloring matter is not accepted.

(9) Starch agar medium (27-degree-C culture)
On colorless growth, white aerial mycelium is grown slightly, and soluble coloring matter is not accepted.

(10) Malic-acid lime agar medium (27-degree-C culture)
On colorless growth, white aerial mycelium is grown slightly, and soluble coloring matter is not accepted.

[0027] 3. Physiological property (1) As a result of examining using a growth temperature requirement glucose asparagine agar medium (glucose 1.0% and L-asparagine 0.05%, potassium phosphate 0.05%, string agar 3.0%, pH7.0) at each temperature of 10 degrees C, 20 degrees C, 24 degrees C, 27 degrees C, 30 degrees C, 37 degrees C, and 50 degrees C, growth at 10 degrees C and 50 degrees C was not accepted, but be grown in 20 degrees C - 37 degrees C. Growth optimum temperature is considered to be near 27 degree C.

(2) Hydrolysis of starch (starch and a mineral salt agar medium, the ISP-culture medium 4 and a starch agar medium, and all are cultivated 27 degrees C)
In the culture for 21 days, it is negative also in which culture medium.

(3) Generation of melanin Mr. coloring matter (trypton yeast broth, ISP-culture-medium 1;peptone yeast and an iron agar medium, an ISP-culture-medium 6; thyrosin agar medium, the ISP-culture medium 7; all are cultivated 27 degrees C)
Also in which culture medium, it is negative.

[0028] (4) Availability of a carbon source (9; 27 degrees-C culture of PURIDOHAMU GODORIBU agar-medium and ISP-culture media)
It grows using D-glucose, D-fructose, an inositol, and D-mannitol, and L-arabinose, sucrose, rhamnose, and a raffinose are not used. It is not [the existence of use of D-xylose] ascertained.

(5) The dissolution of malic-acid lime (a malic-acid lime agar medium, 27-degree-C culture)
The dissolution of malic-acid lime is accepted around [after culture] the 10th, and the operation is whenever [middle].

(6) The reduction reaction of a nitrate (8 or 27 degrees-C culture of 0.1% potassium-nitrate content peptone water and ISP-culture media)
It is negative.

[0029] If the above description is summarized, on the gestalt, MK299-95F4 share will branch radical viable cell yarn well, will present the shape of JIGUZAKU, and will accept fragmentation. Aerial mycelia have the shape of direct, and the shape of irregular music, and are divided in the fragment of a cylindrical shape - an ellipse, or the spore's structure. a whorl branch, ******, and

a spore obtain and a movement sexual spore is not accepted. By various culture media, white aerial mycelium is grown on growth of colorlessness light yellow - light yellow tea. Soluble coloring matter wears yellow or yellow-brown by a part of culture media. Each of generation of melanin Mr. coloring matter, water solubility of starch, and reduction reactions of a nitrate is negative.

[0030] By the way, the MK299-95F4 share fungus body component showed the cell wall type IV mold to the cell wall including the 2,6-diaminopimelic acid, the arabinose, and the galactose of a meso mold. The reducing sugar in [all] a fungus body were A molds containing arabinose and a galactose. The result of a glycolate test was an acetyl mold. Moreover, mycolic acid was not contained, but phospholipid was a PII mold (phosphatidylcholine and strange glucosamine content phospholipid are not included including phosphatidylethanolamine), and main menaquinones were MK-9 (H4). a fatty acid -- 16:0, i-15:0, 16:1, and i- 16:0 and 17:0 were used as the principal component.

[0031] Seeing from the above result, MK299-95F4 share is Amycolatopsis (Amycolatopsis). Group (reference: "International Journal of Systematic Bacteriology" 36 volumes, 29 - 37 pages, 1986) It is thought that it belongs. Retrieval of the known strain of the Amycolatopsis group raised Amycolatopsis SURUFUREA (Amycolatopsis sulphurea) (reference 1:same-as-the-above; and reference 2: "International Journal of Systematic Bacteriology" 37 a volume, 292 - 295 pages, 1987) as a kind of a close relationship. Then, MK299-95F4 share and this laboratory preservation strain of Amycolatopsis SURUFUREA are [comparison] under examination to practice. this time -- MK299-95F4 share -- Amycolatopsis ESUPI (Amycolatopsis sp.) -- it is referred to as MK299-95F4. In addition, the deposition application of the MK299-95F4 share was made in National Institute of Bioscience and Human-Technology, Agency of Industrial Science and Technology, and it was entrusted with the deposition number as FERM P-15243 on October 17, Heisei 7.

[0032] In enforcing the approach of the 2nd this invention, the production bacillus of the epoxy kino mycin C and D belonging to the Amycolatopsis group is inoculated into a nutrition culture medium, and it cultivates in this culture medium. The nutrition culture medium used here contains the carbon source and nitrogen source which can carry out utilization of the aforementioned production bacillus as a nutrition component.

[0033] As the nutrient, nutrients which can be assimilated, such as what is usually used as a nutrient of a microorganism, for example, a carbon source, a nitrogen source, and mineral salt, can be used. For example, the mineral salt of dipotassium phosphate, sodium phosphate, salt, a calcium carbonate, magnesium sulfate, a manganese chloride, etc. can be used for nitrogen sources, such as the carbon source like fats and oils, such as carbohydrates, such as grape sugar, a maltose, molasses, a dextrin, a glycerol, and starch, and soybean oil, peanut oil, and a peptone, a meat extract, cottonseed powder, a soybean meal, a yeast extract, casein, corn steep liquor, NZ-amine, an ammonium sulfate, an ammonium nitrate, and an ammonium chloride and a pan, and a trace element, for example, cobalt, iron etc. be added as occasion demands If a use bacillus can use for producing antibiotic epoxy kino mycin C and D in addition to this as a nutrient, any well-known nutrient can be used.

[0034] Especially the blending ratio of coal of the nutrient like the above in a culture medium is not restrained, can continue broadly and can be changed, and if the optimal presentation and the optimal blending ratio of coal of a nutrient are a person concerned by the epoxy kino mycin C to be used and D production bacillus, an easy bench scale test can determine easily. Moreover, as for the nutrition culture medium which consists of the above-mentioned nutrient, it is advantageous to be able to sterilize in advance of culture and to adjust pH of a culture medium in front of this sterilization or in the back in the range of 6-8, especially the range of pH 6.5-7.5.

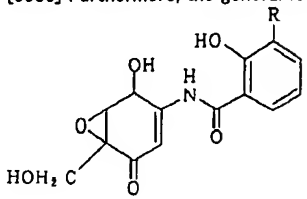
[0035] Culture of the epoxy kino mycin C in this nutrition culture medium and D production bacillus can be performed according to the approach usually used in manufacture of the antibiotic by the common Actinomyces. Usually, it can carry [while cultivating under an aerobic condition is suitable and it stirs, and/or] out, carrying out aeration. Moreover, although both stationary culture shaking culture and the submerged culture accompanied by aeration stirring are usable as the culture approach, liquid culture is suitable for mass production method of

epoxy kino mycin C and D.

[0036] Although the culture temperature which can be used can be suitably chosen according to the production bacillus which growth of epoxy kino mycin C and D production bacillus is not substantially checked, it is not especially restricted if it is the range which can produce this antibiotic, and is used, especially a desirable thing can mention the temperature within the limits of 25 to 30 degree C. Culture is continuable until epoxy kino mycin C and D is usually fully accumulated. Although the culture time amount changes with the presentation of a culture medium, culture temperature and service temperature, use production strain, etc., the target antibiotic can usually be obtained by culture of 72-120 hours. The accumulated dose of the epoxy kino mycin C and D in the culture medium under culture can use staphylococcus AUREUSU Smith, and he can do a quantum with the cup method used for the quantum of the usual antibiotic.

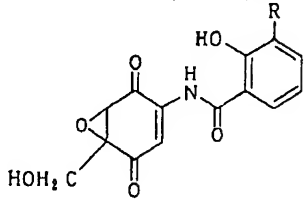
[0037] The epoxy kino mycin C and D accumulated into the culture in this way extracts this from a culture. After culture, as occasion demands, after removing a fungus body from a culture by the separation approaches well-known in itself, such as filtration and centrifugal separation The solvent extraction adjust the culture filtrate to acidity (pH 2-4), and using an organic solvent, especially ethyl acetate, etc., Isolation purification of the chromatography using the chromatography and gel filtration using adsorption or ion-exchange ability, and countercurrent distribution can be carried out by using it, being independent or combining, and the target antibiotic can be extracted. As support for chromatographies which has adsorption and ion-exchange ability, activated carbon, silica gel, porous polystyrene-divinylbenzene resin, or various kinds of ion exchange resin can be used. Moreover, from the separated fungus body, the target antibiotic can be extracted from a fungus body by the solvent extraction method using a suitable organic solvent, or the melting by fungus body crushing, and isolation purification can be carried out like the above. The new molecular entity epoxy kino mycin C and D which has the above mentioned property in this way is obtained.

[0038] Furthermore, the general formula aforementioned in the 3rd this invention (I)



(I)

They are the antibiotic epoxy kino mycin C which is expressed with (R showing a hydrogen atom by epoxy kino mycin C, and showing a chlorine atom by epoxy kino mycin D among a formula) and which is a compound, epoxy kino mycin D, and the following general formula (II).



(II)

The antirheumatic characterized by containing at least one compound chosen from the antibiotic epoxy quinomycin A which is expressed with (R showing a chlorine atom by epoxy quinomycin A, and showing a hydrogen atom by epoxy kino mycin B among a formula), and which is a compound and epoxy kino mycin B, or these salts as an active principle is offered.

[0039] In the antirheumatic by the 3rd this invention, the epoxy kino mycin or the pharmaceutically permissible salt of those as an active principle can be a formal constituent with which it is mixed with the solid-state of pharmaceutically permissible daily use or liquid support,

for example, ethanol, water, starch, etc.
[0040] The epoxy quinomycin A and the epoxy kino mycin B which are used as an active principle with the antirheumatic by the 3rd this invention are the new matter, and the detail of these physicochemical qualities is Japanese Patent Application No. It is indicated by 7 No. - 315542 specification, and is Amycolatopsis of the above [specification / this]. Those manufacturing methods by culture of sp.MK 299-95F4 share are also indicated.
[0041] The main places of epoxy quinomycin A and the physicochemical quality of B are indicated below.
(1) epoxy quinomycin A is physicochemical -- description -- A appearance and property: -- light yellow fine particles and weak acidic matter B melting point: 168 to 173 degree C (decomposition)
C) 25+44.6 degrees (c 0.51, methanol) of specific-rotation:[alpha] D
D) The Rf value of TLC : when it developed and measures with a chloroform-methanol (10:1) as an expansion solvent with the thin-layer chromatography of 0.28 silica gel (Art.105715, Merck Co. make).
[0042] E) molecular formula: -- C14H10NO6 ClF ultraviolet absorption spectrum: -- the main peaks of UV absorption spectrum measured in the methanol solution are as follows.
lambdamax nm (epsilon)236 (sh.8900), 255 (sh.5900), 325 (8000), a 370(sh, 2700) G infrared absorption spectrum (KBr briquette method)
numax (cm-1) 3450, 1710, 1670, 1600, 1520, 1460, 1340, 1230 [0043] (2) epoxy kino mycin B is physicochemical -- description -- A appearance and property: -- light yellow fine particles and weak acidic matter B melting point: 178 to 184 degree C (decomposition)
C) The Rf value of 25+32.2 degree (c 0.51, methanol) DTLC of specific-rotation:[alpha] D : when it developed and measures with a chloroform-methanol (10:1) as an expansion solvent with the thin-layer chromatography of 0.52 silica gel (Art.105715, Merck Co. make).
[0044] E) molecular formula: -- C14H11NO6F ultraviolet absorption spectrum: -- the main peaks of UV absorption spectrum measured in the methanol solution are as follows.
lambdamax nm (epsilon)237 (6100), 253 (sh, 5400), a 326(6300) G infrared absorption spectrum (KBr briquette method)
numax (cm-1) 3430, 1710, 1660, 1610, 1530, 1340, 1230 [0045] The epoxy kino mycin C and D, the epoxy quinomycin A, and B which are used as an active principle with the antirheumatic by the 3rd this invention have the activity which controls the collagen induction arthritis which is the animal experiment model of arthritis-chronica rheumatism as aforementioned. When epoxy kino mycin C and D, epoxy quinomycin A, and especially B are used as an antirheumatic, although those doses change with symptoms, generally, the adult daily dose of 10-2000mg, they are 20 to 600 mg preferably, and it is good [doses] to prescribe a medicine for the patient in 1 - 3 steps as occasion demands according to a symptom. A medication method can take the gestalt suitable for administration, and is especially desirable. [of oral administration or vein-administration]
[0046] Since epoxy quinomycin A - D have the depressant action to collagen induction arthritis as they are shown above, they can expect not only rheumatoid arthritis but to apply as autoimmunity mitigation or an inhibitor effective also in prevention or the therapies of an autoimmune disease, such as systemic lupus erythematosus, systemic sclerosis, a periarteritis nodosa, ulcerative colitis, and juvenile diabetes.
[0047]
[Embodiment of the Invention] Next, although an example explains this invention to a detail further, this invention is not limited to the following example.
[0048] Example 1 Antibiotic epoxy kino mycin C and D, epoxy quinomycin A, and manufacture (A) glycerol of B 0.5%, shoe cloth 2%, soybean meal 1%, 1% of dry yeast, corn steep liquor 0.5%, cobalt chloride Liquid medium containing 0.001% (it adjusts to pH7.0) Erlenmeyer flask (500ml **) It pours 110ml distributively at a time, and is a conventional method. It sterilized at 120 degrees C for 20 minutes. Amycolatopsis sp. cultivated to these culture media at the agar slant medium MK299-95F4 The stock (FERM P-15243) was inoculated and rotary shaking culture was carried out for five days at 30 degrees C after that. This obtained **** culture medium.

[0049] Glycerol 2%, dextrin 2%, bacto-SOITON 1%, powder yeast extract 0.3%, ammonium sulfate 0.2%, calcium carbonate Liquid medium which contains one drop of silicone oil 0.2% (it adjusts to pH7.4) Erlenmeyer flask (500ml **) It pours 110ml distributively at a time, and is a conventional method. It sterilized at 120 degrees C for 20 minutes. Then, it inoculated the 2ml of the above-mentioned **** culture medium into these culture media at a time, respectively, and rotary shaking culture was carried out to them for four days at 27 degrees C.
[0050] Thus, centrifugal separation of the obtained culture medium was carried out, and the fungus body was removed. Culture filtrate 1.8l. (L) is 6 N-HCl. It is butyl acetate after making it pH2. It extracted by 1.8L and the butyl-acetate layer was dried with anhydrous sodium sulfate. Concentration hardening by drying was carried out under reduced pressure of a butyl-acetate layer, residue was melted to methanol 50ml, and it washed twice by hexane 50ml. When concentration hardening by drying of the methanol layer was carried out under reduced pressure, brown oily matter (980mg) was obtained. If this oily matter is given to a silica gel column (Merck, Kieselgel 60, 120ml) and sequential elution is carried out by the toluene-acetone system (1 five: 10:1, 3:1), the mixture of 19mg and epoxy kino mycin C and D 170mg was obtained. [epoxy quinomycin A] [18mg and epoxy kino mycin B] When separation purification of the 51mg of this mixture was carried out with silica gel TLC (Merck, Art.105715, a chloroform-10% water methanol = it develops 3 times by 10:1), 13mg of epoxy kino mycin C of a white solid-state was obtained, and 23mg of epoxy kino mycin D of yellowish brown powder was obtained. That is, epoxy kino mycin C is the melting point. It is obtained with the yield of 13mg as 168-172 degrees C (decomposition) white powder, and epoxy kino mycin D is the melting point. It was obtained with the yield of 23mg as yellowish brown powder of 163 to 168 degree C (decomposition).
(B) The culture medium obtained like the still more nearly aforementioned (A) term was filtered, and the fungus body was separated. In 2.55l. (L) of culture filtrates, it is 6 N-HCl. After making it pH2, it extracted by butyl-acetate 2.55L, and the butyl-acetate layer was dried with anhydrous sodium sulfate. Concentration hardening by drying was carried out under reduced pressure of a butyl-acetate layer, residue was melted to methanol 50ml, it washed twice by hexane 50ml, and concentration hardening by drying was carried out under reduced pressure of a methanol layer. It is chloroform-methanol-water (50:10:40,100ml) about the obtained residue. If it distributes and concentration hardening by drying is carried out under reduced pressure of a lower layer, it is brown oily matter (0.515g). It was obtained. This oily matter was given to the silica gel column chromatography (Kieselgel 60, the Merck Co. make, 50ml), and sequential elution was carried out with the toluene-acetone mixed solvent (1 three: 10:1, 7:1, 5:1, 2:1). The obtained activity fraction was given to the silica gel column chromatography of these conditions, and sequential elution was carried out with the toluene-acetone mixed solvent (1 ten: 50:1, 20:1, 7:1). Epoxy quinomycin A and the mixture of B 124mg was obtained. Separation purification was carried out having bet 35mg of this mixture on silica gel TLC (expansion solvent: a chloroform-methanol, 20:1). Epoxy quinomycin A is the melting point. It is obtained with the yield of 20mg as light yellow powder of 168 to 173 degree C (decomposition), and epoxy kino mycin B is the melting point. It was obtained with the yield of 10mg as light yellow powder of 178 to 184 degree C (decomposition).

[Translation done.]

* NOTICES *

JPO and NCIPI are not responsible for any
damages caused by the use of this translation.

1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2.**** shows the word which can not be translated.
3.In the drawings, any words are not translated.

DESCRIPTION OF DRAWINGS

[Brief Description of the Drawings]
[Drawing 1] The inside of the methanol solution of epoxy kino mycin C, 0.01Ns It is each ultraviolet absorption spectrum in a NaOH-methanol solution and a 0.01N HCl-methanol solution.

[Drawing 2] It is the infrared absorption spectrum measured with the KBr briquette method of epoxy kino mycin C.
[Drawing 3] It is the proton nuclear-magnetic-resonance spectrum measured with the heavy methanol solution (internal standard: trimethyl silane) of epoxy kino mycin C.
[Drawing 4] It is the carbon 13 nuclear-magnetic-resonance spectrum measured with the heavy methanol solution (internal standard: trimethyl silane) of epoxy kino mycin C.
[Drawing 5] The inside of the methanol solution of epoxy kino mycin D, 0.01Ns It is each ultraviolet absorption spectrum in a NaOH-methanol solution and a 0.01N HCl-methanol solution.

[Drawing 6] It is the infrared absorption spectrum measured with the KBr briquette method of epoxy kino mycin D.
[Drawing 7] It is the proton nuclear-magnetic-resonance spectrum measured with the heavy methanol solution (internal standard: trimethyl silane) of epoxy kino mycin D.
[Drawing 8] It is the carbon 13 nuclear-magnetic-resonance spectrum measured with the heavy methanol solution (internal standard: trimethyl silane) of epoxy kino mycin D.

[Translation done.]